ПАРАЗИТОЛОГИЯ, XVII, 2, 1983

УДК 576.893.192.1 : 598.6

АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ ТКАНЕЙ ЦЫПЛЯТ ПРИ КОКЦИДИОЗЕ (EIMERIA TENELLA)

М. А. Мусаев, Я. Я. Елчиев, Г. А. Мамедова

Институт зоологии АН АзССР, Баку

Установлено снижение активности лактатдегидрогеназы сыворотки крови и повышение активности глутатионредуктазы в эритроцитах цыплят при экспериментальном кокцидиозе (*Eimeria tenella*). У птиц, леченных химкокцидом (70 мг/кг корма), активность этих ферментов не претерпевает изменений. Активность фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы не изменяется в эритроцитах больных птиц, а при лечении химкокцидом происходит увеличение его активности. Активность аспартатаминотрансферазы (АСТ) понижается в ткани мышц, повышается в печени и мозге больных птиц. Активность аланинаминотрансферазы повышается в печени и в мышцах, а в мозге активность его снижается на 3-й и повышается на 7-й дни инвазии.

Изучение ферментов при паразитарных заболеваниях представляет исключительный интерес для понимания механизма патологического процесса, так как ферменты являются наиболее ценным источником информации о процессах, происходящих в тканях животных хозяев и их паразитов, необходимых для рационализации лечебно-профилактических мероприятий и изыскивании новых эффективных лекарственных средств, обладающих избирательным действием на ферментативные процессы у паразитов, не нарушая при этом их в организме хозяев.

Цитохимические и биохимические исследования последних лет выявили определенные изменения в активности некоторых ферментов у животных, пораженных кокцидиями. Обнаружено, что кокцидии вызывают изменения активности пероксидазы, каталазы, щелочной и кислой фосфатаз и ряда ферментов углеводного обмена в кишечнике и крови своих хозяев (Мусаев, Суркова, 1972, 1974; Эрматова, Клепач, 1977; Бейер, 1979; Лудинова, 1981; Durzynski e. a., 1978).

По литературным данным, кокцидиозы животных сопровождаются изменением активности и ферментов обмена аминокислот у животных хозяев. В частности, установлено, что при кокцидиозе цыплят (*E. tenella*), кроликов (*E. stiedae*), индюшат (*E. meleagrimitis*) в крови и печени нарушается активность ферментов глутаматдегидрогеназы, аспартат- и аланинаминотрансфераз (Арнастаускене, Кадите, 1972; Хованских и др., 1976; Суркова, 1978; Hein, Lommler, 1978; Augustine, Thomas, 1979).

Однако в литературе нет данных, касающихся изучения активности ферментов лактатдегидрогеназы, глутатионредуктазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы у птиц при этом заболевании. Остаются также неизученными аминотрансферазы тканей мышц и мозга, что и служило причиной для проведения настоящей работы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Суточных цыплят породы белый плимутрок выращивали в лаборатории в стерильных по кокцидиозу условиях до 20-дневного возраста. Затем цыплят разбили на контрольные (20 голов) и опытные группы (130 голов). Цыплят опытной группы заражали чистой культурой *Eimeria tenella* в дозе 30 тыс. ооцист на 1 птицу. Последнюю группу цыплят через сутки после заражения вновь разбили на 2 подгруппы, одна из которой получала химкокцид в дозе 70 мг/кг корма (50 голов), а другая служила в качестве зараженного контроля (80 голов). Падеж среди последней подгруппы составлял 45% (36 из 80 зараженных).

Цыплят для биохимических исследований по 10 голов забивали на 3-й, 5-й, 7-й и 10-й дни после заражения и лечения. Определяли активность ферментов глутатионредуктазы (КФ 1.6.4.2) и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.49) в эритроцитах, лактатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.27) — в сыворотке крови, аспартатаминотрансферазы (КФ 2.6.1.1) и аланинаминотрансферазы (КФ 2.6.1.2) — в тканях печени, мозга и бедренных мышц. Прежде чем определить активность первых двух ферментов в соответствии с требованием методики изучали уровень гематокрита и количество гемоглобина в крови.

Определение активности аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) в тканях проводили по Райтман и Франкель (1957), Колб и Камышникову (1976). Активность ферментов глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФД), глутатионредуктазы (ГР) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) по методу Беутлера с соавторами (Beutler e. a., 1977) на кинетическом анализаторе фирмы LKB (Швеция). Активность АСТ, АЛТ и ЛДГ выражали в мкМ пировиноградной кислоты, образовавшейся при инкубации 1 г ткани и 1 мл сыворотки в течение 1 ч при 37 °С, а активность Г-6-ФД и ГР в МЕ/г Hb. Количество гемоглобина определяли гемоглобинцианидным методом и выражали в г%, а гематокрит в %. Все полученные данные были подвергнуты биометрической обработке (Асатиани, 1965).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Полученные данные показали, что у зараженных птиц наблюдается уменьшение количества гемоглобина в крови (рис. 1). Снижается также уровень гематокрита, за исключением 5-го дня инвазии, когда наблюдается кратковременное повышение его уровня (рис. 2). Самый низкий уровень гемоглобина обнаруживается на 10-й день ($P < 0.01$), а гематокрита на 7-й день ($P < 0.001$). Лечение птиц химкокцидом предотвращает уменьшение их уровня, и незначительные отклонения этих показателей крови от нормы в процессе лечения носят статистически недостоверный характер.

Полученные нами данные относительно гемоглобина и гематокрита соответствуют данным других авторов, изучавших эти гематологические показатели крови птиц при кокцидиозах (Mukkur, Bradley, 1969; Арнастаускене, Кадите, 1971; Орехов, 1971; Кошкина, 1971; Лудинова, 1981).

Изучение ферментов крови показало, что активность ЛДГ сыворотки зараженных птиц снижается только в препатентный период инвазии (3-й и 5-й дни), а в остальные дни заболевания находилась в пределах физиологической нормы. Применение химкокцида в лечебных целях в период развития шизонтов первой и второй генераций паразита не привело к восстановлению активности ЛДГ (рис. 3).

Активность Г-6-ФД в эритроцитах зараженных птиц характеризовалась незначительным ее понижением, а у леченых наблюдалось обратное явление, т. е. повышение активности Г-6-ФД. Наблюдалось повышение активности и другого фермента эритроцитов — ГР у больных птиц по сравнению с нормой. Достоверное повышение активности его отмечалось на 7-й день инвазии ($P < 0.01$). У леченых птиц активность ГР в эритроцитах не подвергалась каким-либо изменениям (рис. 3).

Анализ приведенных данных показывает, что лечение больных птиц химкокцидом в дозе 70 мг/кг корма предотвращает патологические изменения в организме птиц и тем самым способствует сохранению физиологического уровня гематологических показателей и активности ГР в эритроцитах. Между тем, как было указано выше, этот антикокцидийный препарат вызывает дополнительные изменения активности Г-6-ФД в эритроцитах птиц, что, видимо, связано с отрицательным воздействием химкокцида на этот фермент.

Результаты определения активности АСТ и АЛТ в печени, мозге и мышцах зараженных птиц показаны на рис. 4 и 5. В печени и мозге зараженных птиц активность фермента АСТ в препатентный период инвазии не претерпевает достоверных изменений. В начале патентного периода в обеих тканях начинается увеличение активности этого фермента. К 10-му дню уровень его в печени восстанавливается до показателей контрольных птиц, а в мозге изменение активности АСТ идет в обратном направлении, т. е. наступает инактивирование процесса переаминирования с участием этого фермента (рис. 4).

В отличие от печени и мозга в мышцах нарушение активности АСТ начинается уже в препатентном периоде и характеризуется его снижением. На 3—5-е дни снижение активности АСТ составляет 14.6% по сравнению с нормой. В начале патентного периода, т. е. на 7-й день, отмечается кратковременное восстановление его активности, которая продолжается недолго и резко снижается к 10-му дню инвазии. Инактивирование АСТ в этот день составляет 43.6% по сравнению с показателями контрольных незараженных птиц.

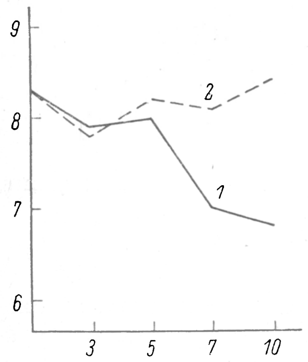

Рис. 1. Изменение количества гемоглобина у птиц при кокцидиозе и при его лечении.

1 — зараженные птицы, *2* — леченые. По оси ординат — количество гемоглобина (в г/%), по оси абсцисс — дни исследований.

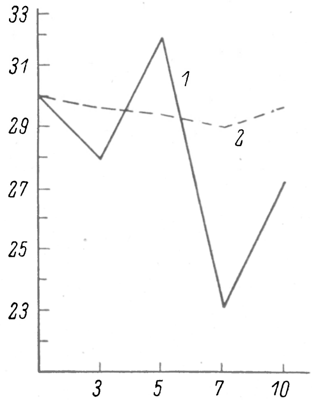

Рис. 2. Изменение уровня гематокрита у птиц при кокцидиозе и при его лечении.

По оси ординат — уровень гематокрита (в %). Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

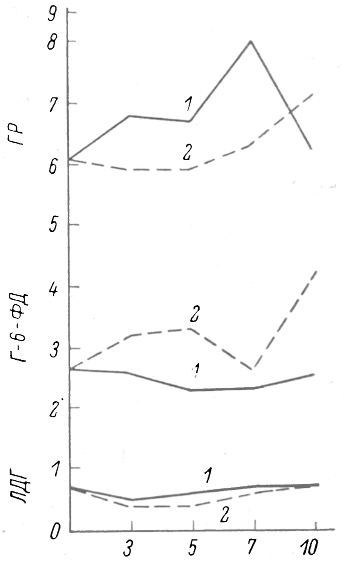

Рис. 3. Изменение активности ферментов лактатдегидрогеназы сыворотки крови (в мкм), глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы и глутатионредуктазы (в МЕ/гHb) в эритроцитах у птиц при кокцидиозе и при его лечении.

По оси ординат — активность ферментов. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

Сравнительный анализ изучения активности АСТ печени, мозга и мышц птиц в норме и при заражении кокцидиями показывает, что наибольшая активность фермента в норме имеется в мышцах по сравнению с двумя другими органами. Причем в мышцах больных птиц наблюдается значительное снижение активности АСТ, тогда как в печени и мозге отмечается повышение процесса переаминирования с участием этого фермента (рис. 4).

Наряду с изменением активности АСТ в тканях больных птиц, наблюдается нарушение и в реакциях переаминирования, сопровождающееся участием другого фермента — АЛТ. Как следует из рис. 5, активность АЛТ ткани печени птиц на 3-й день инвазии в период развития шизонтов первой генерации не претерпевает значительных изменений ($P < 0.5$). Следующая стадия паразита — развитие второй генерации шизонтов вызывает повышение активности АЛТ. В этот период она на 65.9% больше соответствующих показателей контрольных птиц ($P < 0.01$). Повышенный уровень активности АЛТ в печени сохраняется до 7-го дня инвазии и к 10-му снижается до нормы.

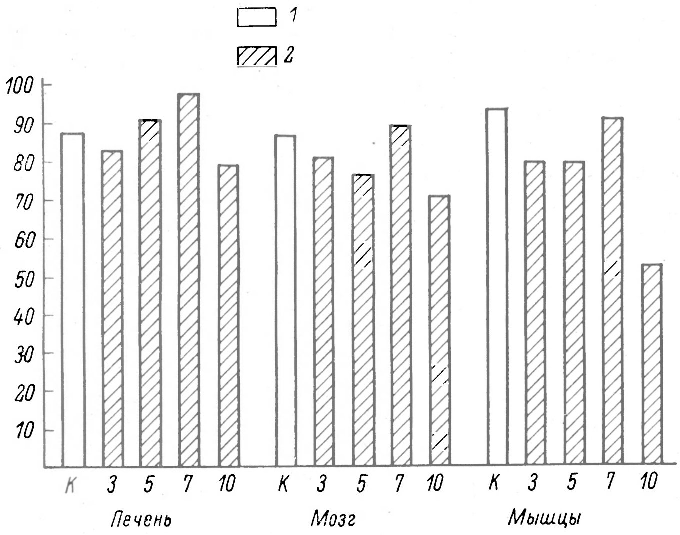

Рис. 4. Изменение активности аспартатаминотрансферазы печени, мозга и мышц у птиц при кокцидиозе.

1 — контрольные птицы, 2 — зараженные.
По оси ординат — активность фермента, мкМ/г сырой ткани.

Активность АЛТ ткани мозга на 3-й день инвазии резко снижается и доходит до 12.2 при 30.6 мкМ у контрольных ($P < 0.01$). На 5-й день инвазии уровень ее подходит к норме, а на 7-й день инвазии активность его становится

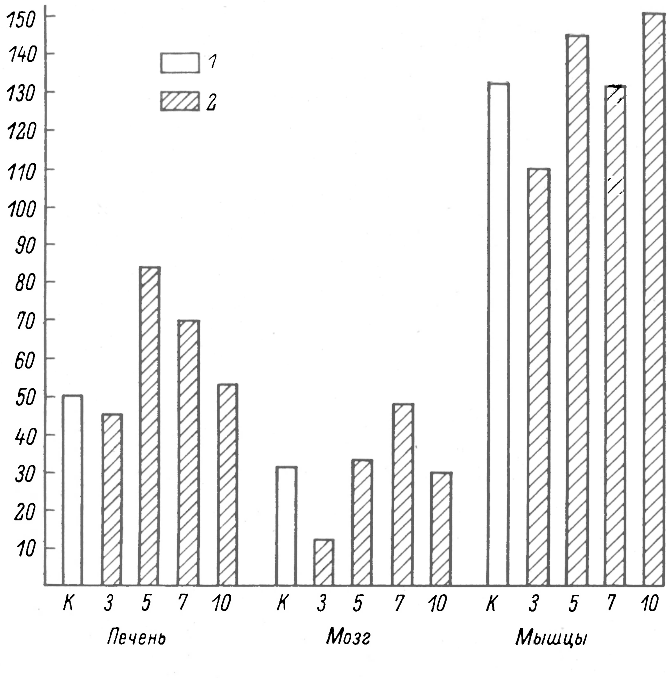

Рис. 5. Изменение активности аланиноминотрансфераз печени, мозга и мышц при кокцидиозе.

Обозначения те же, что и на рис. 4.

намного выше контроля и достигает 48.1 мкМ ($P < 0.01$). На 10-й день инвазии активность АЛТ вновь возвращается к исходным показателям. Из приведенных данных видно, что изменение активности АЛТ мозга не имеет однотипного характера, а кривая его активности не прямолинейна и зависит от стадий развития паразита в кишечнике хозяина.

Активность АЛТ в мышцах зараженных птиц изменяется подобно таковой в печени и в мозге. Повышение активности АЛТ мышц отмечается с 5-го дня инвазии. На 7-й день уровень ее подходит к норме, а на 10-й день вновь повышается и становится намного выше не только от показателей контрольных, но и зараженных птиц, наблюдаемых на 5-й день инвазии. В этот день активность АЛТ мышц находится на самом высоком уровне (рис. 5).

Анализ полученных данных показывает, что в норме у птиц среди исследованных тканей наибольшей АСТ и АЛТ активностью обладают мышцы. Печень и мозг имеют одинаковую активность АСТ, а в печени АЛТ активность больше, чем в мозге.

Среди зараженных птиц наивысшая активность АСТ наблюдается в печени на 7-й день инвазии, а наименьшая в мышцах на 10-й день после заражения (рис. 4). Активность АЛТ в изученных органах у зараженных птиц, как указывалось выше, в мозге на 3-й день ниже и выше в мышцах на 10-й день инвазии. Причем изменение активности АЛТ в мозге и мышцах больных птиц не носит прямолинейный характер: снижается или повышается попеременно в зависимости от развития паразита (рис. 5).

Из результатов опытов следует, что при кокцидиозе птиц (*E. tenella*) происходят заметные изменения в активности ЛДГ, ГР, АСТ и АЛТ.[1]

Литература

Арнастаускене Т., Кадите Б. Динамика биохимических изменений крови и некоторые клинические показатели при экспериментальном кокцидиозе цыплят. — Матер. 1-го съезда ВОПР, Баку, 1971, с. 192—193.

Арнастаускене Т., Кадите Б. К вопросу об активности некоторых ферментов в крови цыплят при экспериментальном кокцидиозе. Проблемы паразитологии. — Тр. 7-й научн. конфер. паразитол. УССР. Ч. 1, Киев, 1972, с. 52—53.

Асатиани В. С. Новые методы биохимической фотометрии, М., Наука, 1965, с. 483—510.

Бейер Т. В. Цитологические исследования кокцидий, облигатных внутриклеточных паразитов. — Автореф. докт. дис., Л., 1979. 36 с.

Кошкина В. И. Патогенность различных видов кокцидий кур и ее значение в патогенезе кокцидиоза. — Матер. 1-го съезда ВОПР, Баку, 1971, с. 223—224.

Колб В. Г., Камышников В. С. Клиническая биохимия. Минск, Беларусь, 1976, с. 77—84.

Лудинова И. С. Исследование обмена железа и железосодержащих белков у кур при кокцидиозе. — Автореф. канд. дис., Л., 1981. 16 с.

Мусаев М. А., Суркова А. М. Изменение активности кишечных фосфатаз при экспериментальных кокцидиозах (E. tenella, E. mitis). — Паразитология, 1972, т. 6, вып. 1, с. 11—15.

Мусаев М. А., Суркова А. М. Активность фосфатаз слизистой оболочки тонкого кишечника цыплят при одно- и трехкратном заражении кокцидиями E. tenella. — Паразитология, 1974, т. 8, вып. 2, с. 170—174.

Орехов В. С. Распространение кокцидиоза цыплят в Мордовской АССР и изучение некоторых морфологических и биохимических показателей крови в динамике экспериментального острого кокцидиоза. — Автореф. канд. дис., Ульяновск, 1971. 18 с.

Суркова А. М. Изменение активности глутамикоаланиновой и глутамикоаспарагиновой трансаминаз ткани печени цыплят, зараженных летальной дозой ооцист Eimeria tenella и леченных отечественным кокцидином. — Матер. 1-ой Закавказ. конфер. по общей паразитол. Тбилиси, Мецниереба, 1978, с. 107—114.

Хованских А. Е., Зарецкая К. С., Михайлов Г. А. Активность аминотрансфераз в сыворотке крови цыплят, инвазированных E. tenella. — Матер. 2-го съезда ВОПР, т. 3. Киев, 1976, с. 118—119.

Эрматова Д. У., Клепач Р. А. Амилолитическая активность слизистой кишечника цыплят при экспериментальном заражении кокцидиями E. mitis. — Узб. биол. журн., 1977, вып. 6, с. 31—32.

Augustine P. C., Thomas O. P. Eimeria meleagrimitis in young turkcys: effects on weight blood and organ parametrs. — Avian Diseases, 1977, vol. 23, N 4, p. 854—862.

---

[1] Авторы приносят свою благодарность сотрудникам лаборатории протозоологии Всесоюзного научно-исследовательского института ветеринарного птицеводства (Ленинград) за предоставление исходной чистой культуры кокцидий *E. tenella* и сотрудникам лаборатории биохимической генетики Научного центра биологических исследований АН АзССР (Баку) за помощь в определении активности ферментов при выполнении настоящей работы.

Beutler E., Beume K. G., Kaplan I. C., Lohr G. W., Kamot B., Valentine W. N. Reference methods for red cell enzyme analisis. — Brit. J. Hacmatol. ICSH-Report (exp. 12), 1977, vol. 35, N 2, p. 331—338.

Durzynski D. W., Roy S. A., Gastro G. Intestinal disaccharidase and peroxidase deficiencies during Eimeria nieschulzi infections in rats. — J. Protozol., 1978, vol. 25, N 2, p. 226—231.

Mukkur T. K., Bradley R. E. Eimeria tenella: Pasked blood cell volume, hemoglobin and serum proteins of chickens correlated with the immune state. — Exp. Parasitol., 1969, vol. 26, N 1, p. 1—16.

Hein B., Lommler G. Veranderungen der Enzymaktivitaten in Serum bei Eimeria stiedae infizierten Kaninchen. — Z. Parasitenk., 1978, Bd 57, H 3, S. 199—211.

THE ACTIVITY OF SOME FERMENTS OF TISSUES OF CHICKENS DURING THE INFECTION WITH EIMERIA TENELLA

M. A. Musaev, J. J. Elchiev, G. A. Mamedova

SUMMARY

It has been established that during experimental infection of chickens with *Eimeria tenella* the decrease in the activity of lactatdehydrogenase of blood serum and the increase of the activity of glutathionereductase in erythrocytes take place. In birds treated with chemcoccid (70 mg/kg of food) the activity of these ferments does not change. The ferment activity of glucose-6-phosphatdehydrogenase does not change in erythrocytes of sick birds while during the treatment with chemcoccid its activity increases. The activity of aspartate aminotransferase decreases in tissues of muscles and increases in liver and brain of sick birds. The activity of alanine aminotransferase decreases in the brain in three and increases in seven days after the infection.